

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局(43) 国際公開日  
2002 年 11 月 7 日 (07.11.2002)

PCT

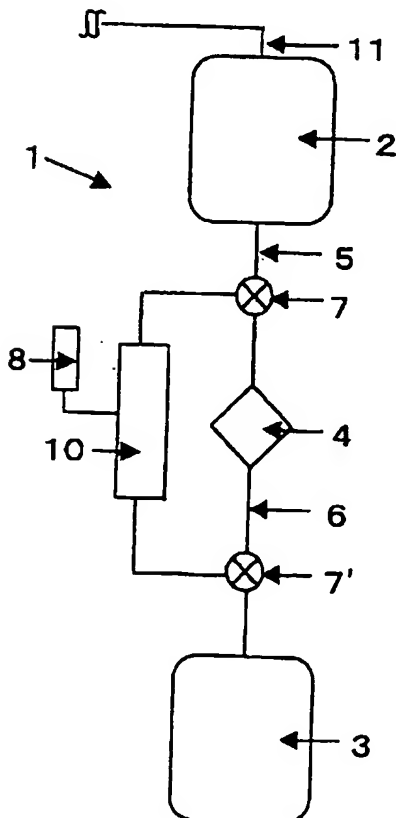
(10) 国際公開番号  
WO 02/087660 A1

- (51) 国際特許分類: A61M 1/02 千 101-8482 東京都 千代田区 神田美土代町9-1 Tokyo (JP).
- (21) 国際出願番号: PCT/JP02/04201
- (22) 国際出願日: 2002 年 4 月 26 日 (26.04.2002) (72) 発明者; および
- (25) 国際出願の言語: 日本語 (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 福田 達也 (FUKUDA, Tatsuya) [JP/JP]; 千 870-0303 大分県 大分市 大字里 2 6 2 0 番地 Oita (JP). 三浦 司和 (MIURA, Morikazu) [JP/JP]; 千 870-0254 大分県 大分市 横塚 2 丁目 1 9 番 1 1 号 Oita (JP).
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
- 特願2001-129177 2001 年 4 月 26 日 (26.04.2001) JP (74) 代理人: 藤野 清也, 外 (FUJINO, Seiya et al.); 千 160-0004 東京都 新宿区 四谷 1 丁目 2 番 1 号 三浜ビル 8 階 Tokyo (JP).
- 特願2001-129176 2001 年 4 月 26 日 (26.04.2001) JP
- 特願2001-262539 2001 年 8 月 31 日 (31.08.2001) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 旭メディカル株式会社 (ASAHI MEDICAL CO., LTD.) [JP/JP]; (81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK,

[続葉有]

(54) Title: BLOOD FILTRATION METHODS AND BLOOD FILTRATION APPARATUS

(54) 発明の名称: 血液濾過方法および血液濾過装置



(57) Abstract: Methods wherein a blood cell concentration gradient is formed in a pooling unit in which blood is pooled before or after introducing the blood into a filter for eliminating leukocytes followed by the filtration. By the first method comprising forming a blood cell concentration gradient in the pooling unit before introducing blood into the filter for eliminating leukocytes followed by the filtration, leukocytes can be efficiently eliminated from a whole blood preparation or a high platelet collection ratio can be established while maintaining a high leukocyte elimination ratio. By the second method comprising forming a blood cell concentration gradient in the pooling unit after introducing blood into the filter for eliminating leukocytes followed by the filtration, leukocytes can be efficiently eliminated from a whole blood preparation or a platelet preparation and platelets can be collected at a high ratio. A blood filtration apparatus which is an automated filtration initiator whereby a stable filtration performance can be achieved while relieving burden loaded on an operator.

[続葉有]



DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告書

(84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT,

2 文字コード及び他の略語については、定期発行される各 PCT ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

---

(57) 要約:

本発明は血液濾過方法及び血液濾過装置に関する。

本発明は、白血球除去フィルターに血液を導入する前、あるいは導入後に、血液を貯留する貯留部内において血球濃度勾配を形成させ、濾過する方法である。

白血球除去フィルターに血液を導入する前に、貯留部において血球濃度勾配を形成させ濾過する、本発明の第一の方法は、全血製剤から白血球を効率良く除去すること、あるいは高い白血球除去率を維持しつつ高い血小板回収率を達成することができる。白血球除去フィルターに血液を導入した後に、血球濃度勾配を形成させ濾過する、本発明の第二の方法は、全血製剤あるいは血小板製剤から、白血球を効率良く除去できるとともに、血小板を高度に回収することができる。

また、本発明の血液濾過装置は、濾過実施者の負担を軽減しつつ、安定したフィルター性能を得ることができる、自動濾過開始装置である。

## 明 細 書

## 血液濾過方法および血液濾過装置

## 〔技術分野〕

本発明は、白血球除去フィルターを用いて血液から白血球を除去するための血液濾過方法及び血液濾過装置に関する。

## 〔背景技術〕

輸血医学の進歩により、受血者が必要な成分のみを輸血する、いわゆる成分輸血が今日の輸血医療の主流となっている。成分輸血が普及した理由として、受血者の負荷を軽減できること、治療効果を高めることができること等の利点を挙げることができる。成分輸血に用いられている濃厚赤血球製剤、濃厚血小板製剤、血漿製剤などの血液成分製剤は、献血によって得られた全血製剤を遠心分離することによって調整されている。一方、このようにして調整された血液成分製剤には、多量の白血球が混入しており、この混入白血球が、輸血に伴う頭痛、吐き気、悪寒、非溶血性発熱反応などの比較的軽微な副作用や、受血者に深刻な影響を及ぼすアロ抗原感作、ウィルス感染、輸血後GVHDなどの重篤な副作用を引き起こすことが明らかとなり、繊維素材や連続気孔を有する多孔質体などのろ材を充填した白血球除去フィルターが広く用いられるようになってきている。

白血球除去フィルターを用いた白血球の除去は、全血製剤から除去する場合と、各血液成分製剤を調整した後に除去する場合に大別される。後者は各血液成分製剤毎にフィルターが必要となるのに対し、前者は1つのフィルターで全血製剤から白血球を除去し、その後遠心分離することによって、複数種の白血球を除去した血液成分製剤を調整できるため、より好ましい方法と考えられている。

特に最近では、全血製剤用バッグ、フィルター、及び遠心分離後に調整される各血液成分製剤用のバッグ等が一体となり、無菌的に白血球を除去した血液成分製剤が調整できる、いわゆるクローズドシステムが注目され、血液センター等で使用されている（特開平1-320064号公報等）。

通常、クローズドシステムを含めて、血液センター等でフィルターを用いて白血球除去した血液を調整する方法は、白血球を多量に含む血液が入ったバッグとフィルターとフィルターで濾過した血液を回収するバッグ等とを、塩化ビニル等の軟質チューブを介して接続したシステムを用いて行われる。より詳しくは、白血球未除去の血液が入ったバッグをフック等を有するラックに架け、0.5～2m程度の落差に吊り下げ、白血球未除去の血液をよく混和して均質な状態とした後、チューブ中のクランプやブレーカブルシールを手動で解除し、フィルターを通して白血球を除去した血液を回収バッグに回収する方法で行われている。かかる操作は、濾過実施者をできるだけ拘束しないようにするために、実質的に連続して行われている。

現在市販されている、全血製剤を濾過対象としたクローズドシステムは、白血球及び血小板を除去する。このため、白血球を除去した濃厚赤血球製剤と血漿製剤の2成分の血液成分製剤を最終的に得ることができる。

全血製剤には多量の白血球が混入しているため、各血液成分製剤から白血球を除去した場合と同様の残存白血球数とするには、より容量の大きいフィルターが要求される。しかし、フィルター容量の増加はフィルターに残留する血液量を増やすことになり、この残留血は濾過後にフィルターと共に廃棄されるため、貴重な血液のロス量を増大させるという問題を生じてしまう。

また、全血製剤は、採血後長くとも3日以内、多くは数時間以内の新鮮な状態のものが濾過対象となるのが一般的である。特に採血後1時間未満の、非常に新鮮で温度が高い全血製剤を濾過すると、フィルターの白血球除去性能が低下することが知られている。

以上のように、全血製剤から白血球を効率良く除去するには課題が残っており、より効率良く、高い白血球除去を達成できる血液の濾過方法の確立が強く望まれている。

また、近年では、全血製剤から白血球のみを選択的に除去し、赤血球、血漿とともに血小板も回収する機能を有するフィルターが開発されつつある (Transfusion vol. 39 (1999)、No. 10S、Supplemen

t、S 5 4 1 - 0 4 0 K、S 5 4 2 - 0 4 0 K)。

このようなフィルターを用いて全血製剤を濾過すると、白血球を除去した濃厚赤血球製剤、濃厚血小板製剤、血漿製剤の3成分の血液成分製剤を最終的に調整することができる。しかしながら、新鮮な全血製剤に含まれている血小板は、採血によるストレス等でやや活性化された状態にあり、フィルターに粘着しやすい性質となっているので、高い血小板回収率を安定して確保できるレベルには至っていないのが現状である。

血小板回収率を向上させる手段として、日本国特許第2521090号公報には、フィルター材料が、水または生体にとって害の少ない水溶性物質の水溶液で飽和含水率以上の湿潤状態に保持されたフィルターを開示している。これは、予め生理食塩水等の水溶液でフィルター材料を湿潤させることによって血小板の粘着を抑制し、血小板回収率を向上させる技術であるが、本発明者らが検討したところ、高い白血球除去性能を維持しつつ十分な血小板回収率の改善効果を得ることはできなかった。また、ここで開示されているフィルターは、予め生理食塩水等で湿潤されているため、フィルター内に誤ってエアが導入された場合、そのエアをフィルター装置外に排気することが困難であり、血液の流れが低下あるいは停止する恐れもある。

一方、全血製剤を遠心して血液成分製剤に分画し、その後フィルターで濾過する方法も知られている。例えば、特開2000-334034号公報では、全血製剤を3, 520×gの非常に強い遠心にかけ、血漿と、血小板を多く含む軟膜と、濃厚赤血球の3つの成分に分離し、このうちの軟膜と濃厚赤血球を1つのフィルターで順次濾過する方法が開示されている。この方法によれば、白血球を除去した濃厚血小板製剤と濃厚赤血球製剤の2つの血液成分製剤と、白血球が除去されていない血漿製剤が最終的に調整される。しかしながら、本発明者らの検討によると、かかる強遠心を施した場合、血小板が活性化し、十分な血小板回収率を得ることが困難であった。また、血漿製剤は白血球が除去されないという課題の残るものであった。

WO 92/07656号公報には、採血によって得た全血を軽遠心で濃厚赤血球製剤と多血小板血漿に分離し、それぞれの成分を別々のフィルターで濾過する

方法及びシステムが開示されている。この方法によれば、最終的に調整される全ての血液成分製剤は白血球除去されるが、2つのフィルターを複数のバッグと一緒に遠心カップに挿入するという、煩雑な操作を必要とする。また、フィルターを2つ必要とすることからコストもかかるという課題があった。

一方、全血製剤あるいは成分採血装置で調整した濃厚血小板製剤や多血小板血漿等の血小板製剤から白血球を選択的に除去するフィルターは市販され、血液センターや臨床現場で使用されている。かかるフィルターを用いれば、粘着性の高い血小板をある程度回収することができるものの、血液個体差等により血小板回収率にばらつきが生じ、血小板回収率の安定性の面にはさらなる改善の余地が残っている。

以上のように、全血製剤から白血球を除去する、あるいは全血製剤や、全血製剤由来または成分採血由来の血小板製剤から白血球を除去しつつ血小板を回収する既存技術には、改良すべき多くの課題が残されている。フィルター容量を大型化する必要のないように白血球除去性能をより高め、血小板を回収する場合にはその回収率をさらに向上させ、さらには操作の容易な血液濾過方法の確立が望まれている。

一方、白血球除去が安全な輸血を行う上で有効であるということが認識されるにつれ、血液センター等において、白血球除去処理する血液量が年々増加している。大量の血液を処理する濾過実施者の負担を軽減するために、血液濾過の自動化が望まれ、その要求に沿った開発が進められている。

例えば、特開平10-212237号公報には、ポンプを用い、一定流量を確保しつつ血液の自動濾過を行う装置が開示されている。かかる装置は、フィルター入口近傍の圧力を監視しつつ、圧力変動に応じてポンプの作動をコントローラにより制御し、適切な血液濾過流量に維持する装置である。

また特開平9-108334号公報には、所定量の血液が処理されたことを、タイマーや、液面または気/液界面を光学的に検出するセンサー、血液の重量を検出する重量センサー、チューブの圧力を検出する圧力センサー等で検出し、自動的に濾過を停止させる装置が開示されている。

さらに、今まで以上に厳しい血液製剤の品質管理に対する要求に答えるために、血液濾過工程の自動化のみならず、個々の血液の濾過データ（濾過時間、温度、流速等）をコンピューターで記録することができる自動濾過装置が開発されている（Vox Sanguinis Vol. 78 (Supplement 1), 2000, P 517, P 518）。この装置は、濾過前のみならず濾過中も血液を機械的に自動混和しながら40もの血液の、フィルターによる一斉同時濾過を自動化できる点、及び濾過データ等を自動的に記録できる点で優れた装置である。

上述した装置は、均質な状態の血液の自動濾過、一定流量を確保する自動濾過、及び濾過の停止を自動的に行うことを目的とした自動濾過装置である。一方、本発明の血液濾過装置は、本発明のフィルターの性能を向上させるための血液濾過法を実施する上で好適な自動濾過開始装置であって、ここに挙げた自動濾過装置とは異なるものである。

以下の記載において、本発明の血液濾過方法及び自動濾過装置の特徴を詳細に説明する。

#### [図面の簡単な説明]

図1は、本発明の血液濾過装置の実施態様を示す模式図であり；

図2は、本発明の血液濾過装置の他の実施態様を示す模式図であり；

図3は、図1及び図2に示す血液濾過装置の制御系を示すブロック図であり；

図4は、光学センサーを信号発生手段として用いた場合の、センサーと血液貯留部との実施態様を示す部分側面図であり；

図5は、光学センサーを信号発生手段として用いた場合の、センサーと血液貯留部との他の実施態様を示す部分側面図であり；

図6は、光学センサーを信号発生手段として用いた場合の、センサーと血液貯留部とのさらに他の実施態様を示す部分側面図である。

#### [発明の開示]

本発明の第一の目的は、フィルターの濾過性能を向上させ、操作の容易な血液濾過方法を提供することにある。より詳しくは、フィルター容量を増すことなし

に、極めて新鮮な全血製剤からも白血球を高い効率で除去できる血液濾過方法、あるいは全血製剤や全血製剤由来または成分採血由来の血小板製剤から、高い白血球除去能を維持しつつ高い血小板回収率を安定して達成できる血液濾過方法を提供することにある。本発明者らが鋭意検討した結果、血液バッグに代表される血液を貯留する貯留部において、血球濃度勾配を形成した不均質状態の血液を濾過する方法とすることで、上記第一の目的を達成できることを見出した。

本発明の第二の目的は、本発明の血液濾過方法に好適な自動濾過開始装置を提供することにある。本発明者らは、適切な血球濃度勾配が形成された後に信号を発する信号発生手段と、該信号発生手段からの信号に基づき自動的に通液制御手段を解除させる作動手段とを設けた血液濾過装置とすることで、上記第二の目的を達成できることを見出した。

本発明の目的は、下記に示す血液濾過方法及び血液濾過装置により達成されるものである。

- (1) 血液から白血球を除去するための血液濾過方法であって、血液を貯留する貯留部において血球濃度勾配を形成した後、血液を白血球除去フィルターで濾過し、濾過した血液を回収部で回収することを特徴とする血液濾過方法、
- (2) フィルターに血液を充填する前に、予め貯留部において血液の血球濃度勾配を形成させる、上記(1)記載の血液濾過方法、
- (3) 所定時間の静置によって血球濃度勾配を形成させる、上記(1)又は(2)記載の血液濾過方法、
- (4) 5分以上300分未満の静置によって血球濃度勾配を形成させる、上記(3)記載の血液濾過方法、
- (5) 軽遠心によって血球濃度勾配を形成させる、上記(1)又は(2)記載の血液濾過方法、
- (6)  $100 \times g$ 以上 $1200 \times g$ 以下の遠心力で、0.3分以上10分以下の軽遠心を行うことによって血球濃度勾配を形成させる、上記(5)記載の血液濾過方法、

- (7) 軽遠心によって血球濃度勾配を形成させた後、所定時間静置する上記(5)又は(6)記載の血液濾過方法、
- (8) フィルターに血液を充填後、貯留部において血液の血球濃度勾配を形成させる、上記(1)記載の血液濾過方法、
- (9) 所定時間の通液制御によって血球濃度勾配を形成させる、上記(1)又は(8)記載の血液濾過方法、
- (10) 5分以上300分未満の通液制御によって血球濃度勾配を形成させる、上記(9)記載の血液濾過方法、
- (11) 血液が新鮮な全血製剤である上記(1)～(10)のいずれかに記載の血液濾過方法、
- (12) 貯留部下部の血液のヘマトクリット値が、貯留部の全血製剤を均質に混合した場合のヘマトクリット値より高くなるように赤血球濃度勾配を形成した後、血液を貯留部下部から白血球除去フィルターへ導入する、上記(1)～(11)のいずれかに記載の血液濾過方法、
- (13) 貯留部下部の血液のヘマトクリット値が、貯留部の全血製剤を均質に混合した場合のヘマトクリット値の1.05倍以上2.50倍未満である、上記(12)記載の血液濾過方法、
- (14) 貯留部下部の血液のヘマトクリット値が35%以上75%未満である、上記(12)又は(13)記載の血液濾過方法、
- (15) 血球濃度勾配を形成した貯留部の血液の血球分離度が3%以上60%未満である、上記(11)～(14)のいずれかに記載の血液濾過方法、
- (16) 血液が血小板製剤である、上記(8)記載の血液濾過方法、
- (17) 血液から白血球を選択的に除去し、血小板を通過させる、上記(1)～(16)のいずれかに記載の血液濾過方法、
- (18) 一つの白血球除去フィルターで濾過する上記(1)～(17)のいずれかに記載の血液濾過方法、
- (19) 少なくとも、血液を貯留する貯留部と、該貯留部を保持する保持部と、白血球除去フィルターと、該フィルターで濾過した血液を回収する回収部と、貯留部と白血球除去フィルターとを接続する第1連結管と、白血

球除去フィルターと回収部とを接続する第2連結管とを含む血液濾過装置において、第1連結管及び／または第2連結管に設けられた血液の通液を制御する通液制御手段と、該通液制御手段に連動した信号発生手段と、該信号発生手段からの信号に基づき、前記通液制御手段を自動解除させる作動手段を有することを特徴とする血液濾過装置、

- (20) 血液の貯留部を、保持部によって所定時間静置した後に、信号発生手段から信号が発せられる、上記(19)記載の血液濾過装置、
- (21) 血液の貯留部を、保持部によって5分以上300分未満静置した後に、信号発生手段から信号が発せられる、上記(20)記載の血液濾過装置、
- (22) 軽遠心した後の血液が入った貯留部を、保持部によって所定時間静置した後に、信号発生手段から信号が発せられる、上記(19)記載の血液濾過装置、
- (23)  $100 \times g$  以上  $1200 \times g$  以下の遠心力で、0.3分以上10分以下の軽遠心を行った後の血液が入った貯留部を、保持部によって所定時間静置した後に、信号発生手段から信号が発せられる、上記(22)記載の血液濾過装置、
- (24) 血液を、フィルターに充填して所定時間通液を制御した後、信号発生手段から信号が発せられる、上記(19)記載の血液濾過装置、
- (25) 血液を、フィルターに充填して5分以上300分未満通液を制御した後、信号発生手段から信号が発せられる、上記(24)記載の血液濾過装置、
- (26) 3%以上60%未満の血液分離度に達した後、信号発生手段から信号が発せられる、上記(19)～(25)のいずれか記載の血液濾過装置、
- (27) 信号発生手段がタイマーである、上記(19)～(25)のいずれか記載の血液濾過装置、及び
- (28) 信号発生手段が光学センサーである、上記(19)又は(26)のいずれか記載の血液濾過装置。

まず、本発明の血液濾過方法について、詳細に説明する。

血液に含まれる血球は比重が異なり、赤血球は約1.08、顆粒球及び単球は

約 1.07、リンパ球は約 1.06、血小板は血漿とほぼ同じ約 1.03 であることが知られている。このような比重の異なる血球を含む血液をそのまま静置しておくと、比重差によって血球の濃度勾配が形成される。本発明の血液濾過方法は、かかる性質を利用した方法である。

本発明の第一の血液濾過方法は、予め血液の貯留部において血球の濃度勾配を形成させ、不均質な状態の血液とした後、貯留部下部の血液から白血球除去フィルターに導入し、濾過する方法である（以下、この血液濾過方法を「第一の濾過法」という）。より詳しくは、本発明の「第一の濾過法」とは、全血製剤を濾過する場合に好適な方法であって、該全血製剤を貯留する、血液バッグに代表される貯留部の内部において、比重の重い赤血球や白血球（顆粒球、単球）を多く含む血液を貯留部下部に沈降させ、その上層に比重の軽い白血球（リンパ球）、さらにその上層に血小板や血漿を多く含む血液となるように、貯留部内における血球の濃度が異なるように全血製剤を予め不均質化して後、比重の重い血球の含有量が減少する方向で血液を貯留部下部から白血球除去フィルターに導入し、濾過する方法である。さらに本発明の「第一の濾過法」は、貯留部に含まれている実質的に全ての血液を 1 つのフィルターで濾過する方法である。

通常は、血液を白血球除去フィルターで濾過する前に、血液の血球濃度が均質になるように混和される。均質に混和されるのは、血液中に含まれる微小凝集物等によるフィルターの有効濾過面積部分の閉塞が、濾過初期段階で発生することを防止するためである。微小凝集物は血球に比較して大きく、かつ重いため、不均質な状態では貯留部の下部に沈降する。このような状態で濾過を開始すると、沈降した微小凝集物がフィルターと比較的早く接触し、濾過初期段階でフィルターの有効濾過部分で閉塞が起こってしまい、片流れによる濾過時間の大幅な延長や、フィルター性能の著しい低下を招く恐れがある。このような現象は、数日間以上保存した血液で特に起こりやすいと考えられ、できるだけ血液を均質な状態にした後に濾過することが好ましいとされてきた。また、血漿含量が少ない濃厚赤血球製剤を不均質な状態で濾過すると、比重の重い赤血球が沈降し、その部分はヘマトクリット値（血液内に占める赤血球の容積比率）が高い、極めて粘度の高い部分となる。この部分をフィルターで濾過しようとしても通液できなかった

り、無理に濾過しようと圧力をかけると、赤血球が溶血してしまう等の問題が起こりうる。以上のような現象から、血液をできるだけ均質な状態とした後に濾過する方が血液の流れ性の確保、及びフィルターの白血球除去性能の安定化の観点から好ましい、と考えられていた。

しかしながら、本発明者らが室温保存の比較的新鮮な全血製剤で鋭意検討を行ったところ、血球の濃度勾配を形成させて不均質な状態とした後、赤血球や顆粒球の濃度が高い血液から濾過しても、上述のような不具合を観察しなかったばかりか、驚くべきことに白血球除去能が格段に向上することを見出した。

さらに、血小板回収機能を有するフィルターを用い、かかる不均質化した全血製剤を濾過すると、意外なことに血小板回収率も格段に向上することを見出した。

本発明で血球濃度勾配を形成しても、思いがけず通液性が確保された理由として、採血後の保存期間が短い新鮮な全血製剤は微小凝集物の含有量が少なく、前述したような微小凝集物に由来する不具合が発生しなかったことが考えられる。また、濃厚赤血球製剤に比較して全血製剤は血漿が多いために著しく粘度が上昇した部分が形成され難く、十分な通液性を確保することができたとも考えられる。しかしながら、白血球除去能と血小板回収率の大幅な向上は予想外の効果であった。全血製剤の不均質化による、かかる濾過特性の変化のメカニズムは不明であるが、以下のような理由であろうと推測している。全血製剤を不均質化し、比重の比較的重い赤血球と白血球が貯留部の下部に沈降した場合、この部分は血漿の割合が少なくなっている。かかる血液からフィルターで濾過した場合、濾過初期におけるフィルター材料は、アルブミン等の血球粘着を抑制する血漿タンパク質で十分に覆われておらず、その結果、フィルター材料表面に粘着する白血球数が増え、白血球の除去能が向上したと思われる。一方、比重の軽い血小板は不均質化した全血製剤の上層に多く存在することになり、血小板がフィルター材料と接触するときには、フィルター材料の表面がアルブミン等の血漿タンパク質で覆われ、その結果、血小板が粘着し難くなって、回収率が向上したものと思われる。

さらに本発明者らは、血小板回収機能を有するフィルターを血液で満たし、その後、所定時間通液を低速保持または停止させる通液制御を行い、しかる後に血

液を濾過する第二の血液濾過方法によって、驚くべきことに血小板回収率が大幅に向上することを知見した（以下、この方法を「第二の濾過法」という）。

より詳しくは、本発明の「第二の濾過法」とは、全血製剤あるいは濃厚血小板製剤や多血小板血漿等の血小板製剤に含まれる白血球を除去し、血小板は通過させるのに好適な方法であって、均質な血液でフィルターを満たした後に、所定時間、血液の通液を低速に保持する、あるいは停止する制御を行い、かかる制御を行っている間に貯留部内の血液に血球濃度勾配を形成させ、その後に通液制御手段を解除して濾過を開始し、フィルターで白血球を除去した血液を血液バッグ等の回収部で回収する方法である。また、「第二の濾過法」も「第一の濾過法」と同様、貯留部に含まれている実質的に全ての血液を、1つのフィルターで濾過する方法である。

「第二の濾過法」によって血小板回収率が大幅に向上した理由として、以下の二つが考えられる。一つはフィルターを血液で満たした後の所定時間の通液制御によって、貯留部内の血液が血球濃度勾配を形成し、「第一の濾過法」と同様の、濃度勾配形成に起因する効果が得られたことが挙げられる。もう一つは、通液制御している間にフィルター材料が血液で湿潤され、その表面がアルブミン等の血漿タンパク質によってまんべんなく覆われ、血小板が粘着し難くなったことが考えられる。

本発明の第二の濾過法で言う「フィルターを血液で満たす」とは、フィルター導入口から血液をフィルター内に導入し、導出口から血液が導出するまでの操作を言う。この操作において、フィルター材料全体を血液で湿潤させた方が、より血小板回収率が向上するため、できるだけフィルター内に空気が残らないように血液を満たすことが好ましい。

本発明の通液制御とは、血液の通液を低速に保持する、あるいは停止することを言う。ここで、「血液の通液を低速に保持する」とは血液がほとんど通液しない状態を言い、具体的には、血液の平均線速を、 $0\text{ cm/分}$ を超え $0.2\text{ cm/分}$ 以下、好ましくは $0\text{ cm/分}$ を超え $0.1\text{ cm/分}$ 以下の平均線速にすることを言い、「血液の通液を停止する」とは血液が全く通液しない状態、即ち $0\text{ cm/分}$ の平均線速にすることを言う。なお、上記した「平均線速」とは、血液の流速（ $\text{m}$

L/分)を、血液の流れ方向に対して垂直な、血液が流れうるフィルターの有効濾過断面積 ( $\text{cm}^2$ ) で除した値である。フィルターの形状によっては、有効濾過断面積が異なる複数のフィルター材料を含み得るが、その場合は、各フィルター材料の有効濾過断面積の平均値を用いる。本発明では、フィルターを血液で満たした後に、通液を低速に保持または停止させる、いずれの制御を行ってもよいが、操作が簡便であること、及び血小板回収率がより高まることにより、停止させる方が好ましい。

本発明の通液制御は、血液の通液を低速に保持したり、停止できる機能を有するもの、例えば、ローラークランプやスライドクランプ、ロバートクランプ等のクランプ類、鉗子等の連結管を圧縮変形できる治具類や、血液の線速をコントロールできるポンプ等で実施することができる。連結管を圧縮変形する治具で通液制御する場合には、連結管を圧縮し、開口径を小さくすることによって通液を低速に制御したり、または連結管を完全に閉塞することによって、通液を停止させることができる。

本発明の「第一の濾過法」及び「第二の濾過法」は、特に全血製剤を濾過対象とした場合に好適な方法である。ここで言う全血製剤とは、採血された全血に適切な量の抗凝固剤を添加する等の、人工的な加工が施された製剤であるが、濾過される全血製剤の容量に特に限定はない。より具体的には、ACD (アシッドサイトレートデキストローズ) やCPD (サイトレート・フォスフェート・デキストローズ) 等の抗凝固剤を含む、採血後3日以内、好ましくは1日以内、さらに好ましくは8時間以内の血液である。また、採血して後、フィルターで濾過するまでの間、 $4^{\circ}\text{C}$ 以上 $30^{\circ}\text{C}$ 未満、好ましくは $15^{\circ}\text{C}$ 以上 $25^{\circ}\text{C}$ 未満の温度で保存された全血製剤であることが好ましい。採血後3日を超えて保存された全血製剤及び/または、 $4^{\circ}\text{C}$ 以下で保存された全血製剤は、微小凝集物の量が多くなり、血液を不均質化した場合に、微小凝集物でフィルターが閉塞され、流れ不良を起こす恐れがあるため好ましくない。 $30^{\circ}\text{C}$ を超えて保存した場合は、血漿タンパク質の変性等が起こりやすくなるため好ましくない。

本発明の「第一の濾過法」及び「第二の濾過法」における、血球濃度勾配を有

する全血製剤について、詳細に記述する。血球濃度勾配を有する全血製剤は、貯留部下部のヘマトクリット値が均質に混和した場合のヘマトクリット値の1.05倍以上2.50倍未満であるのが好ましい。貯留部下部のヘマトクリット値が均質に混和した場合の1.05倍未満であると、血球濃度勾配の形成が不十分で、白血球除去能及び血小板回収率の向上が見られない傾向にあり、2.50倍を超えると、血液粘度増加による濾過時間の延長や、圧力損失の増加による溶血、あるいは通液性の著しい低下を誘発する恐れがある。貯留部下部のより好ましいヘマトクリット値は、均質に混和した場合のヘマトクリット値の1.05倍以上2.00倍未満であり、さらには1.20倍以上1.70倍未満であることが望ましい。

さらに、血球濃度勾配を有する全血製剤の貯留部下部におけるヘマトクリット値は35%以上75%未満であることが望ましい。35%未満であると血球濃度勾配の形成が不十分で、白血球除去能及び血小板回収率の向上が見られない恐れがあり、75%以上であると濾過時間の延長や、圧力損失の増加による溶血、あるいは通液性の著しい低下を誘発する恐れがあるためである。より好ましくは45%以上65%未満である。

なお、貯留部下部のヘマトクリット値は、貯留部下部から2ないし3mLの血液を直接サンプリングして測定することが好ましいが、サンプリングが困難である場合には全血製剤を濾過する際に、貯留部に接続した連結管に導入された最初の2ないし3mLの血液をサンプリングして測定しても良い。ヘマトクリット値は、ミクロヘマトクリット法等の遠心法、電導度測定法、パルス波高法、自動血球計数装置による測定法等、公知の方法で測定することができる。

また、本発明の「第一及び第二の濾過法」における、血球濃度勾配を有する全血製剤とは、血球分離度が3%以上60%未満、さらには10%以上45%未満であることが望ましい。ここで血球分離度とは、赤血球を実質的に含まない、血漿と血小板と比重の軽いリンパ球を主要構成成分とした相の液量の、全血液量に対する割合である。血球分離度が3%未満では血球濃度勾配の形成が不十分でフィルター性能の向上が見られず、60%以上であると、貯留部下部の血液のヘマトクリット値が高くなりすぎ、濾過時間の延長や圧力損失の増加による溶血、あ

るいは通液性の低下を誘発する恐れがあるため好ましくない。

本発明の「第一の濾過法」において、血球濃度勾配を有する全血製剤とする方法として、貯留部に貯めた血液を静置しておく、いわゆる静置法と、全血製剤が入った貯留部を遠心する、いわゆる遠心法を挙げることができる。

静置法によって血球濃度勾配を形成させるためには、5分以上300分未満の静置時間が好ましい。5分未満では血球の十分な濃度勾配形成が形成されない場合があり、300分以上となると、静置しておく時間が長くなりすぎ、大量の血液を濾過することが困難になるため好ましくない。より好ましくは10分以上180分未満、さらには30分以上120分未満であることが望ましい。

遠心によって血球濃度勾配を形成させる場合、軽遠心する方法が好ましい。軽遠心によって血球濃度勾配を形成させる場合、加速時間及び減速時間を除き、おおよそ $100 \times g$ 以上 $1200 \times g$ 以下、好ましくは $100 \times g$ 以上 $500 \times g$ 以下の遠心力で、0.3分から10分間、遠心を行うことが望ましい。これより弱い遠心であると、血球濃度勾配の形成が不十分となるため好ましくなく、これより強い遠心であると、貯留部に沈降した部分のヘマトクリット値が高くなり、このままの状態では濾過を行うと、血液粘度増加による濾過時間の延長や、一定流速で濾過する場合には圧力損失の増大、それによる赤血球の溶血を招く危険があるため好ましくない。

本発明の「第一の濾過法」における、血球濃度勾配を有する全血製剤は、上述した静置法、遠心法の何れでも調整することができるが、操作の簡便性の観点から静置法であることがより好ましい。また、血小板を通過させたい場合、遠心法では遠心によるストレスによって血小板がやや活性化されるため、遠心直後に濾過を行うと血小板回収率の向上効果が静置法に比較するとやや小さくなる傾向にある。このため、遠心法で血球濃度勾配を形成した後に、活性化された血小板を沈静化するために所定時間の静置時間を設けることが望ましい。血小板沈静化のための静置時間は、5分以上180分未満が好ましく、さらに10分以上90分未満がより好ましい。

本発明の「第二の濾過法」は、フィルターを血液で満たして後、所定時間、通液を制御し、その間に貯留部内で血球濃度勾配を形成させる。この時の通液制御時間は5分以上300分未満であることが好ましい。5分未満の制御時間では、貯留部における血球濃度勾配の形成が不十分となったり、フィルター材料が血漿タンパクで十分に覆われ難いためか、血小板回収率の向上が見られないことがあるため相応しくない。300分以上であると、通液制御しておく時間が長くなりすぎ、大量の血液を濾過することが困難になるため好ましくない。より好ましくは10分以上180分未満、最も好ましくは30分以上120分未満が相応しい。

本発明の「第二の濾過法」は、全血を濾過対象とするのみでなく、濃厚血小板製剤や多血小板血漿製剤の血小板製剤を濾過対象とした場合にも有効な方法である。

ここで言う濃厚血小板製剤や多血小板血漿等の血小板製剤とは、採血した全血製剤を遠心して調整された血小板製剤、または成分採血によって調整された血小板製剤であり、調整後5日以内であることが好ましい。また、かかる血小板製剤が調整されて後、フィルターでろ過するまでの間は、20℃以上25℃未満の室温下で振とう保存された血小板製剤であることが好ましい。調整後5日を超え、上記の温度範囲外で保存された血小板製剤は、血小板機能の低下等を起こす恐れがあるため好ましくない。

血球濃度勾配を有する血小板製剤とは、貯留部下部における白血球濃度が、均質に混和した場合の1.05倍以上の製剤を言う。1.05倍未満であると白血球除去性能が低下する傾向にあるため好ましくない。さらには1.20倍以上2.50倍未満であることが好ましい。

なお、貯留部下部の白血球濃度は、貯留部下部から2ないし3mLをサンプリングするか、貯留部に接続した連結管に導入された最初の2ないし3mLをサンプリングし、白血球の核を染色して顕微鏡を用いて測定することができる。

本発明の血液濾過方法は、血液を貯留する貯留部、濾過した血液を回収する回収部、及び貯留部／回収部とフィルターとを接続する中空管状の連結管を用いて実施されることが好ましい。また、連結管による接続は、無菌接続装置（SCD）

を使用して行っても良い。また、ここで言う連結管とは、血球にダメージを与えないものであれば特に限定はない。中でも、塩化ビニル、シリコン、ポリスルホン、ポリアミド、ポリエステル、ウレタン、ポリエチレン、ポリプロピレン等の有機材料が加工性に優れるため好ましい。

血液を貯留する貯留部とは、血液を貯留できる容器であって、血液細胞の活性化や血漿タンパク質の著しい吸着や変性等を起こさないものであれば特に限定なく如何なるものも使用できる。より具体的には、血液の採血及び保存に広く一般で使用されている軟質ポリ塩化ビニル製、ポリオレフィン製の血液バッグや、ポリプロピレン、ポリエチレン、ポリスチレン製のシリンジ等を挙げることができる。

血液を回収する回収部とは、血液を回収し保存できる容器であって、血液細胞の活性化や血漿タンパク質の著しい吸着や変性等を起こさないものであれば特に限定なく如何なるものも使用できる。また、回収部は、濾過後の血液を回収後、遠心分離によって各成分毎に回収する為の容器を少なくとも一つ以上含み得る。より具体的には、血液の採血及び保存に広く一般で使用されている軟質ポリ塩化ビニル製、ポリオレフィン製の血液バッグ等を挙げることができる。

本発明で好適に使用できる白血球除去フィルターとは、血液の導入口と導出口を有し、血液に混入している白血球を捕捉し、除去できるフィルター材料を充填したフィルターであり、公知の白血球除去フィルターがいずれも使用できる。より具体的には、濾過後の残存白血球濃度を濾過前の白血球濃度で除した値の対数値（ $-\log(\text{濾過後の白血球濃度} / \text{濾過前の白血球濃度})$ ）を白血球除去能と定義した時に、その値が2.30以上、好ましくは3.00以上となるフィルターを言う。

フィルター材料としては、繊維状媒体、スポンジ状媒体等を挙げることができる。また、血液に対して悪影響を与えないものであれば、フィルター材料が血液で濡れやすくする等の目的で、親水性のポリマーをコーティングしたり、放射線グラフト重合によって、フィルター材料の表面を改質しても良い。

白血球除去フィルターに血小板の通過機能を付与するために、血小板低粘着性材料をフィルター材料の表面に導入しても良い。血小板低粘着性材料としては、

特公平6-51060号や特開平1-249063号等に記載されているような、親水性基と、アミノ基またはカルボキシル基等の荷電性基を有するポリマーや、ポリウレタンを好適な材料として挙げるができる。

本発明の血液濾過方法は、血液を白血球除去フィルターでろ過する方法であり、血液バッグ等を貯留部として適切な落差を確保した後に濾過を行っても良いし、ポンプ等を用いて一定の流量で濾過を行っても良い。

本発明の第二の目的は、「第一の濾過法」及び「第二の濾過法」のような、実際にフィルターで血液濾過を開始するまでに所定時間の静置あるいは通液制御を必要とするような血液濾過方法を、自動的に行える装置を提供すること、さらには「第一の濾過法」及び「第二の濾過法」を濾過実施者の負担を軽減しつつ、かつ安定したフィルターの濾過性能で行うための、血液濾過装置を提供することにある。以下に、本発明の血液濾過装置について添付図面に基づいて詳細に説明する。但し、本発明の血液濾過装置は、添付図面の具体例のみに限定されるものではない。

図1及び図2に示すように、本発明の血液濾過装置(1)は、血液バッグに代表される血液の貯留部(2)、フックに代表される血液の貯留部(2)を保持する保持部(11)、回収部(3)、及び血液の導入口と導出口を有するフィルター(4)とを、中空管状の連結管(5、6)で接続し、連結管中の通液制御手段(7、7')は信号発生手段(8、9)からの信号に基づき、作動手段(10)によって自動的に解除される装置である。

本発明の血液濾過装置(1)において、実際にフィルター(4)で血液を濾過する前は、第1の連結管(5)及び/または第2の連結管(6)にある通液制御手段(7、7')によって、通液を低速保持するかあるいは停止して、所定時間、実質的に血液の通液ができないように設定されている。後述する信号発生手段(8、9)から発せられる信号を、作動手段(10)が認識し、しかる後に通液制御手段(7、7')へ作動手段(10)からの信号が送られることによって血液の通液制御が自動的に解除され、濾過が開始されることになる。即ち、本発明の血液濾過装置(1)は、通液制御手段(7、7')と信号発生手段(8、9)と作動手段

(10) とが連動している必要がある。ここで「連動している」とは、信号発生手段(8, 9)からの信号を作動手段(10)を通じて自動的に通液制御手段(7, 7')に伝えることができる状態にあることを言い、通液制御手段(7, 7')と信号発生手段(8, 9)と作動手段(10)は電氣的に接続されていることを言う。作動手段(10)は、信号発生手段(8, 9)及び／または通液制御手段(7, 7')と一体となった形態の装置でも、それ自体が独立した形態の装置であっても良い。

信号発生手段とは、所定時間後あるいは血液が所定の血球濃度勾配を形成した状態に達した後に、作動手段(10)に信号を発信する機能を有した装置である。図1の信号発生手段(8)の例としては、所定時間後に通液制御手段(7, 7')を解除させるタイマーが挙げられ、図2の信号発生手段(9)としては、血液貯留部(2)の血球濃度勾配の形成状態(即ち、血球分離度)を検出でき、かつ通液制御手段(7, 7')と連動した光学センサーを好ましい例として挙げるができる。

タイマーは、「第一の濾過法」及び「第二の濾過法」の何れの方法にも用いることができる。図1において、タイマーを信号発生手段(8)として用いる場合、貯留部(2)を保持部(11)で保持して静置した後、あるいはフィルター(4)に血液を充填した後に血液の通液を制御して後、所定時間が経過した時点でタイマーから信号が発せられるようにセットし、この信号が作動手段(10)を経て通液制御手段(7, 7')に伝わり、通液制御手段(7, 7')が自動解除されて濾過が開始される。

光学センサーは、血液の中でも全血製剤を対象とした濾過を行う際に特に好適に用いることができる信号発生手段である。図2に示すような血液濾過装置で、光学センサーを信号発生手段(9)として全血製剤の濾過を行う場合、貯留部(2)を保持部(11)で保持して静置することによって、血球濃度勾配を形成させ、所定の血球分離度に到達したことを光学センサーが検出した時点でセンサーから信号が発せられ、この信号が作動手段(10)を経て通液制御手段(7, 7')に伝わり、通液制御の自動解除が行われる。

光学センサーとしては、図4に示すような、血球濃度勾配を形成させた際の血

液の界面（例えば、血漿、血小板、比重の軽いリンパ球を多く含む相と、赤血球、比重の重い顆粒球や単球を多く含む相との界面）の位置を光学的に検出するセンサーを挙げることができる。このセンサーは、発光素子と受光素子とを有し、発光素子から発せられた光が血液で反射され、その反射光を受光する仕組みのセンサーである。血球分離が進行し、センサーを設置した位置に血液の界面が到達すると反射光の強度が異なってくる。このことを利用し、適切な血球の分離度となる位置にセンサーを設置し、反射光の強度が変化した時点でセンサーから信号が発せられ、通液制御手段（７、７'）を自動解除することによって血液の濾過が開始される。

その他の光学センサーとしては、図５のように、発光素子を有するセンサーと受光素子を有するセンサーとを、血液貯留部（２）を挟むように両側に取り付けた形態が挙げられる。このセンサーは透過光の強度を検出するセンサーであって、センサーの位置に血液の界面が到達した時点、即ち透過光強度が増大した時点でセンサーから信号が発せられ、通液解除手段（７、７'）が自動解除されることになる。

あるいは図６のように、血液貯留部の上部と下部に取り付けられたセンサーであって、上部と下部の反射光または透過光の強度の差が一定の値となった時点で信号を発し、通液解除手段（７、７'）を自動解除するようなセンサーも本発明に用いることができる。

本発明の血液濾過装置における通液制御手段（７、７'）とは、血液の通液を低速に保持する、あるいは停止できる機能を有し、かつ前述したタイマーあるいは光学センサー等の信号発生手段（８、９）と連動し、信号発生手段（８、９）からの信号によって自動的に通液制御を解除できるものであれば特に限定はされない。例えば、クランプ、バルブ、ポンプ等を例示することができる。ここで通液制御手段（７、７'）の解除とは、例えば、クランプ、バルブで連結管を圧縮して通液制御している場合、かかる圧縮を解除し、血液が流れるように連結管の開口径を広げることを言う。またはポンプで通液制御している場合、ポンプを作動させて通液を開始するかあるいはポンプの能力を上げて通液量を増加することを言う。

図1及び2では、かかる通液制御手段（7，7'）が、血液の貯留部（2）とフィルター（4）を接続する第1の連結管（5）、及びフィルター（4）と血液の回収部（3）を接続する第2の連結管（6）の両方に備えられている場合を示したが、通液制御手段は、いずれか一方にのみ備え付けることもできる。

軟質の血液バッグを血液の貯留部（2）とした場合、バッグが変形し、光学センサーによる界面検出が不安定になることが起こりうる。このような問題を解決し、センサーの精度向上を目的として、血液バッグの形状を一定に保持するホルダーを設けても良い。

本発明の血液の貯留部（2）を保持する保持部（11）とは、貯留部を所定の位置に保持できる機能を有せば特に限定はなく如何なるものも使用できるが、貯留部に振動を与えず、静置できるものが特に好ましい。より具体的には、貯留部を引っ掛け、かつ所望の落差となるように吊すことができるフック等を挙げることができる。

本発明の血液濾過装置（1）は、タイマーあるいは光学センサー等の信号発生手段（8，9）によって通液制御手段（7，7'）を自動解除し、0.5m～2m程度の適切な落差で血液の濾過を行っても、または信号発生手段（8，9）と連動したポンプによって血液の濾過を行っても良く、濾過の形態に特に限定はない。

本発明の血液濾過方法及び／または血液濾過装置により全血製剤を濾過した場合には、白血球を除去した全血製剤を得た後、公知の遠心法によって、白血球が除去された血液成分製剤を調整することもできる。

#### [発明を実施するための最良の形態]

以下に、実施例により本発明の血液濾過方法及び血液濾過装置をさらに説明するが、本発明の範囲はこれらの実施例に限定されるものではない。

最初に第一の濾過方法による実施例を示す。

#### <実施例1>

（白血球除去フィルター）

平均繊維径が1.2  $\mu\text{m}$ 、目付が40 g/m<sup>2</sup>、厚みが0.2 mmのポリエチレンテレフタレート製不織布と、2-ヒドロキシエチルメタクリレート（HEMA）

とジメチルアミノエチルメタクリレート (DM) からなるランダムポリマー (HEMAとDMのモル組成比は97:3。以下HM-3と略す) を血小板低粘着性材料として用い、実験を行った。

(ポリマーの合成及びコーティング)

HM-3ポリマーは、エタノール中のモノマー濃度を1モル/Lとし、開始剤として2, 2'-アゾビス(2, 4-ジメチルバレロニトリル) (和光純薬工業社製、商品名V-65) を1/200モル/Lの存在下、60℃で8時間ランダム重合することによって合成した。

合成したHM-3ポリマーを不織布表面にコーティングする場合は以下の操作を行った。まず合成したHM-3ポリマーをエタノールと水の混合溶媒(重量比: エタノール/水=70/30)で溶解させ、濃度を7g/dLとした液を調整した。次に不織布を直径25mmに打ち抜き、このポリマー液に25℃で1分間浸し、ポリカーボネート製のホルダーに充填し、乾燥窒素を4.5分間通気させ、その後60℃で18時間、真空乾燥することによってコーティングした。

(フィルターの作成)

血液を濾過するフィルターは、不織布を直径20mmに打ち抜いて、有効濾過断面積が1.33cm<sup>2</sup>で、血液の導入口と導出口を有する容器に16枚充填することによって作製した。HM-3をコーティングした不織布を使用する場合は、ポリカーボネート製のホルダーから乾燥後のHM-3がコートされた不織布を取り出し、さらに直径20mmに打ち抜いて後、16枚重ねて充填した。

(血液の濾過試験: 第一の濾過法)

軟質ポリ塩化ビニル製血液バッグに採血され、室温下(20~25℃)で2~3時間保存されたCPD加全血製剤をよく混和した後、この中から8mLの血液をシリンジ(テルモ社製、商品名テルモシリンジ<sup>R</sup> SS-20ESZ)に採取した。全血製剤を含むシリンジにクランプを備えた内径2.5mmのポリ塩化ビニル製チューブを接続し、チューブの反対側末端を上述したフィルターの血液導入口と接続した。また、フィルターの血液導出口に同じチューブを接続し、この反対側末端から導出する血液を回収するために、ポリエチレン製のスピッツ管を配置した。その後、全血製剤の入ったシリンジとフィルター導入口との間のクラ

ンプを閉塞し、シリンジを垂直に立て、60分間静置した後、クランプを解除し、0.9 mL/分の一定流速で濾過を行った。

(白血球除去能および血小板回収率の測定)

濾過前の全血製剤中の白血球濃度は、均質な状態の全血製剤よりサンプリングした血液を用い、チュルク液で白血球を染色後、光学顕微鏡を用いて測定した。濾過後の全血製剤中の白血球濃度は、ポリエチレン製のスピッツ管に回収した血液をサンプリングし、アクリジンオレンジ液で漏れてきた白血球を染色した後、蛍光顕微鏡を用いて測定した。かくして得られた濾過前及び濾過後の白血球濃度より、次式により、白血球除去能を求めた。

白血球除去能 =  $-\log$  (濾過後の白血球濃度 / 濾過前の白血球濃度)

血小板回収率を算出する場合は、白血球濃度を測定した血液と同一の血液を用い、濾過前及び濾過後の血小板濃度を多項目自動血球計数装置 (Sysmex 社製、K-4500) で測定し、次式により求めた。

血小板回収率 = 濾過後血小板濃度 / 濾過前血小板濃度  $\times 100$  (%)

(ヘマトクリット値の測定)

均質な状態でのヘマトクリット値 (以下、プレHtと言う)、及びシリンジ下部のヘマトクリット値 (以下、ポストHtと言う) の測定は以下の方法により行った。プレHt値は、血液バッグに残った、フィルター未処理の全血製剤をよく混和し、この中から2 mLの血液をサンプリングして測定した。血球濃度勾配を有する全血製剤のポストHtは、全血製剤を含む同様のシリンジをもう1本用意し、一定時間静置した後にシリンジ下部の血液を2 mL採取し、これをポストHtの測定に用いた。また、下記に示す比較例においては、一定時間静置した後、再び混和し、シリンジ下部の血液を2 mL採取し、これをポストHtの測定に用いた。プレ及びポストHtの測定は、サンプリングした血液をポリエチレン製のスピッツ管に入れ、血小板濃度の測定と同様に多項目自動血球計数装置で行った。

以上の結果、プレHtは34%、ポストHtは52% (ポストHt / プレHt = 1.53) であり、白血球除去能は3.72、血小板回収率は84%であった。

<実施例2>

静置時間を5分とした以外は実施例1と同じフィルターと全血製剤を用い、濾

過を行った。以上の結果、ポストHtは37%（ポストHt／プレHt＝1.08）であり、白血球除去能は3.80、血小板回収率は75%であった。

#### <実施例3>

静置時間を10分とした以外は実施例1と同じフィルターと全血製剤を用い、濾過を行った。以上の結果、ポストHtは41%（ポストHt／プレHt＝1.21）であり、白血球除去能は3.89、血小板回収率は81%であった。

#### <実施例4>

静置時間を180分とした以外は実施例1と同じフィルターと全血製剤を用い、濾過を行った。以上の結果、ポストHtは57%（ポストHt／プレHt＝1.68）であり、白血球除去能は3.70、血小板回収率は93%であった。

#### <比較例1>

実施例1と同じ全血製剤をシリンジに採取し、60分間静置した。その後、再び混和し、血球濃度勾配が実質的にない、均質な全血製剤とした。この全血製剤を、実施例1と同じフィルターを用い、同じ方法で濾過を行った。以上の結果、ポストHtは35%であり、プレHtと同等であった（ポストHt／プレHt＝1.00）。また、白血球除去能は3.14、血小板回収率は65%であった。

#### <実施例5>

平均繊維径が1.4  $\mu\text{m}$ 、目付が42 g/m<sup>2</sup>、厚みが0.22 mmのポリプロピレンテレフタレート製不織布と、HEMAとジエチルアミノエチルメタクリレート（DE）からなるランダムコポリマー（HEMAとDEのモル組成比は95:5。以下HE-5と略す。）を血小板低粘着性材料として用いて実験を行った。HE-5ポリマーの合成、不織布へのコーティング、及び血液の濾過は実施例1と同様の条件及び方法で行った。以上の結果、白血球除去能は3.65、血小板回収率は85%であった。

#### <実施例6>

ヒドロキシプロピルメタクリレート（HPMA）とDMからなるランダムコポリマー（HPMAとDMのモル組成比は97:3。以下、PM-3と略す。）を血小板低粘着性材料として用いて実験を行った。不織布、PM-3ポリマーの合成、不織布へのコーティング、及び血液の濾過は実施例1と同様の条件及び方法で行

った。以上の結果、白血球除去能は3.74、血小板回収率は88%であった。

#### <実施例7>

HPMAとDMとメトキシジエチレングリコールメタクリレート (DEG) からなるランダムコポリマー (HPMAとDMとDEGのモル組成比は90:3:7。以下、PMDと略す。)を血小板低粘着性材料として用いて実験を行った。不織布、PMDポリマーの合成、不織布へのコーティング、及び血液の濾過は実施例1と同様の条件及び方法で行った。以上の結果、白血球除去能は3.79、血小板回収率は90%であった。

実施例1～7の結果を比較例1の結果と対比すると、血小板低粘着性ポリマーをコーティングした白血球除去フィルターにおいて、血球濃度勾配を形成することによって、白血球除去能のみでなく血小板回収率が顕著に向上していることが分かる。

#### <実施例8>

血小板低粘着性ポリマーをコーティングしていないが、実施例1と同じ不織布を充填したフィルターを作製した。採血後3時間経過したCPD加全血製剤をシリンジに採取し、60分間静置した後に実施例1と同じ方法で濾過を行った。以上の結果、プレHtは39%、ポストHtは6.2% (ポストHt/プレHt=1.59) であり、白血球除去能は4.34であった。

#### <比較例2>

実施例8と同じ全血製剤をシリンジに採取し、60分間静置した。その後、再び混和し、血球濃度勾配が実質的にない、均質な全血製剤とした。この全血製剤を、実施例8と同じフィルターを用い、同じ方法で濾過を行った。以上の結果、ポストHtは39%であり、プレHtと同等であった (ポストHt/プレH=1.00)。また、白血球除去能は3.51であった。

実施例8と比較例2の結果を対比すると、血小板低粘着性ポリマーをコーティングしていない白血球除去フィルターにおいては、血球濃度勾配を形成することによって、白血球除去能が顕著に向上することが分かった。

#### <実施例9>

平均繊維径が $12\mu\text{m}$ 、目付が $30\text{g}/\text{m}^2$ 、厚みが $0.2\text{mm}$ の不織布 (以

下、この不織布をプレフィルターと略す。)、平均繊維径が $1.7\mu\text{m}$ 、目付が $66\text{g}/\text{m}^2$ 、厚みが $0.4\text{mm}$ の不織布(以下、この不織布をメインフィルターAと略す。)、及び実施例1と同様の不織布(以下、この不織布をメインフィルターBと略す。)を、HM-3ポリマーでコーティングした。但し、コーティングは次の操作によって行った。各不織布を一片が $10\text{cm}$ の大きさに切断し、HM-3を溶解させたポリマー液に $25^\circ\text{C}$ で1分間浸す。その後、HM-3の液で濡れた不織布を約半分の厚みにまで圧縮することで余分な液を取り除き、室温で24時間乾燥させ、コーティングした。この操作は、フィルターに充填する必要量のコート後不織布を得るまで、1枚ずつ行った。また、プレフィルターはHM-3の濃度が $5\text{g}/\text{dL}$ の液で、メインフィルターA及びBはHM-3の濃度が $7\text{g}/\text{dL}$ の液でコーティングを行った。

かくして得られたコート済みの不織布を、有効濾過断面積が $45\text{cm}^2$ のポリカーボネート製容器に、血液の導入口側から導出口側に向かってプレフィルターを2枚、メインフィルターAを2枚、メインフィルターBを28枚の構成で充填し、その後超音波溶着することによってフィルターを作成した。

軟質ポリ塩化ビニル製血液バッグに採血され、室温下( $22\sim 24^\circ\text{C}$ )で3時間保存されたCPD添加全血製剤( $450\text{mL}$ )に、上記のフィルターの導入口を内径 $2.9\text{mm}$ のクランプを取り付けたチューブを介して接続し、フィルター導出口と回収バッグも同様のチューブで接続した。全血製剤の入った血液バッグをフックに架け、落差を $1.0\text{m}$ に設定した。60分間静置後にクランプを解除し、フィルターで濾過した血液を回収バッグで回収した。なお、均質な状態からサンプリングした血液と、上記と同様の方法で60分間静置した後の血液バッグ下部からサンプリングした血液よりヘマトクリット値を測定した。以上のような濾過を行った結果、プレHtは38%、ポストHtは54%(ポストHt/プレHt=1.42)であり、白血球除去能は4.12、血小板回収率は87%であった。

#### <実施例10>

実施例7と同様の血小板低粘着性ポリマーを使用した以外は、実施例9と同様の不織布、コーティング、フィルターを用い、同様の条件及び方法で濾過を行っ

た。以上の結果、白血球除去能は4.30、血小板回収率は92%であった。

#### <実施例11>

採血後室温下で3時間保存したCPD添加新鮮全血を含む軟質ポリ塩化ビニル製の血液バッグを遠心分離機（日立工機社製、型式CR7B3）に入れ、300×gの遠心力で0.5分間軽遠心し、血球密度勾配を有する全血製剤（28mL）を調整した。実施例1と同様のHM-3をコーティングした不織布を、内径25mmのホルダーに16枚重ねて充填したフィルターを作成した。遠心により血球濃度勾配を形成させた全血製剤を含む血液バッグに内径2.5mmのポリ塩化ビニル製チューブを接続し、このチューブの反対側末端にフィルターの血液導入口を接続した。さらに血液導出口と濾過した全血製剤を回収する血液バッグを、同様のチューブを介して接続した。プレHtは、遠心前の均質な状態の全血製剤より血液をサンプリングして測定し、ポストHtは、遠心後の全血製剤が入っている血液バッグを5分間静置した後に血液バッグの下部よりサンプリングして測定した。この結果、プレHtは32%、ポストHtは63%（ポストHt／プレHt＝1.97）であった。

フィルター接続後の血球密度勾配を有する全血製剤を入れた血液バッグを吊し、落差40cmで濾過を行った。その結果、白血球除去能は3.48、血小板回収率は76%であった。

#### <実施例12>

採血後室温下で4時間保存したCPD添加新鮮全血を実施例11と同様に遠心し、遠心後の静置時間を60分とした。これ以外は、実施例11と同様の不織布、コーティング、フィルターを用い、同様の方法で濾過を行った。この結果、プレHtは37%、ポストHtは66%（ポストHt／プレHt＝1.78）であり、白血球除去能は3.69、血小板回収率は82%であった。

次に第二の濾過方法による実施例を示す。

#### <実施例13>

実施例1と同じ不織布、血小板低粘着性ポリマー、フィルターを用い、下記の第二の濾過法を行った。なお、白血球除去能、血小板回収率の測定は実施例1と

同様の方法で行った。

(血液の濾過方法：第二の濾過法)

軟質ポリ塩化ビニル製血液バッグに採血され、室温下（20～25℃）で2～3時間保存されたCPD添加全血製剤をよく混和した後、この中から8mLの血液をシリンジ（テルモ社製、商品名テルモシリンジ<sup>R</sup> SS-20ESZ）に採取した。全血製剤を含むシリンジに内径2.5mmのポリ塩化ビニル製チューブを接続し、チューブの反対側末端を上述したフィルターの血液導入口と接続した。また、フィルターの血液導出口にクランプを備えた同じチューブを接続し、この反対側末端から導出する血液を回収するために、軟質ポリ塩化ビニル製バッグを回収バッグとして配置した。その後、全血製剤の入ったシリンジをよく混和し、ポンプを用いて0.68cm/分の一定の平均線速（0.9mL/分流速）でフィルターに充填した。フィルターの血液導出口に血液が出てきたところでポンプを停止し、フィルターと回収バッグの間でクランプを用いてチューブを閉塞し、血液の通液を60分間停止させた。その後、クランプを解除し、ポンプを再起動させて、0.68cm/分の一定の平均線速で濾過を行った。以上の結果、白血球除去能は3.58、血小板回収率は92%であった。

<実施例14>

血液の通液を停止させた時間を5分とした以外は実施例13と同じフィルターを使用し、同じ方法で濾過を行った。以上の結果、白血球除去能は3.60、血小板回収率は83%であった。

<実施例15>

血液の通液を停止させた時間を1分とした以外は実施例13と同じフィルターを使用し、同じ方法で濾過を行った。以上の結果、白血球除去能は3.62、血小板回収率は76%であった。

<比較例3>

フィルターを血液で充填した後の停止時間を設けることなしに濾過を行った以外は実施例13と同じフィルターを用い、同じ方法で濾過を行った。以上の結果、白血球除去能は3.64、血小板回収率は64%であった。

<比較例4>

血液の代わりに、生理食塩水でフィルターを満たした以外は実施例 13 と同じフィルターを使用し、同じ方法で濾過を行った。以上の結果、白血球除去能は 3.50、血小板回収率は 69% であった。

#### <実施例 16>

実施例 5 と同様の不織布、ポリマー及びフィルターを用いて、実施例 13 と同様の条件及び方法で濾過を行った。以上の結果、白血球除去能は 3.48、血小板回収率は 93% であった。

#### <実施例 17>

実施例 9 と同様のフィルターを用い、以下の条件で濾過を行った。

軟質ポリ塩化ビニル製血液バッグに採血され、室温下 (22~24℃) で 4 時間保存された CPD 添加全血製剤 (450 mL) を良く混和し、クランプを備えたチューブでフィルターの血液導入口と接続した。さらにフィルターの血液導出口と回収バッグを同様のチューブで接続し、全血製剤が入っているバッグを落差 1.0 m の高さに設置した。均質な全血製剤をフィルターに導入して満たした時点で、クランプを閉とし、このままの状態 で 60 分間、通液を停止した。その後クランプを解除し、濾過を行った。以上の結果、白血球除去能は 3.64、血小板回収率は 95% であった。

#### <実施例 18>

実施例 13 と同様のフィルター及び全血製剤を用い、フィルターを全血製剤で 0.68 cm/分の一定の平均線速で満たした。その後、ポンプの設定を変更して 0.08 cm/分の平均線速に 5 分間保持し、ポンプの設定を再度変更して 0.68 cm/分の平均線速に戻して、濾過を行った。以上の結果、白血球除去能は 3.61、血小板回収率は 78% であった。

#### <実施例 19>

実施例 13 と同様の方法で作成した、HM-3 がコーティングされた不織布 14 枚を、有効濾過断面積が 1.33 cm<sup>2</sup> で、血液の導入口と導出口を有する容器に充填することによってフィルターを作成した。CPD 添加全血製剤を遠心分離し、22~24℃ で 3 日間、振とう保存した濃厚血小板製剤から 8 mL をシリンジに採取し、よく混和した後、実施例 13 と同様の方法で濾過を行った。但し、

濃厚血小板製剤のフィルターへの充填はポンプを用いて0.92cm/分の一定線速(1.2mL/分流速)で行い、充填後に濃厚血小板製剤の通液を30分間停止させた後、0.92cm/分の一定の線速で濾過を行った。白血球除去能及び血小板回収率は実施例1と同じ方法で行った。以上の結果、白血球除去能は3.20、血小板回収率は88%であった。

以下には、本発明の血液濾過装置を用いて血液の濾過を行う場合の操作方法、及び好ましい条件を記述する。

#### <実施例20>

図1に示すような血液濾過装置で、タイマーを信号発生手段(8)とした「第一の濾過法」を行う場合、まず、通液制御手段(7, 7')を閉にして、血液が充填された血液貯留部(2)をフックに架ける。フックに血液貯留部(2)を架けた後、タイマーを設定する。予めタイマーに設定しておいた時間が経過すると、タイマーからの信号に基づき、作動手段(10)により通液制御手段(7, 7')が解除されて、自動的に血液は通液を開始し、白血球除去フィルター(4)を通過して白血球が除去された血液が血液回収部(3)に回収される。

タイマーによって通液制御手段(7, 7')を自動解除するまでの時間は、血液貯留部(2)をフック等に架けて後、5分以上300分未満が好ましく、10分以上180分未満、さらには30分以上120分未満であることが望ましい。5分未満であると血球の十分な濃度勾配が形成され難い可能性があり、300分以上であると、大量の血液を濾過することが困難になるため好ましくない。

なお、遠心法によって血球濃度勾配を形成させた血液を濾過する場合には、遠心による血小板活性を解消するために、遠心後の血液をフックに架けて後、5分以上180分未満、好ましくは10分以上90分未満経過後に通液制御手段(7, 7')が自動解除されるようにタイマーを設定することが望ましい。

#### <実施例21>

図1に示すような血液濾過装置で、タイマーを信号発生手段(8)とした「第二の濾過法」を行う場合は、血液を充填した血液貯留部(2)を、フックに架ける。次に通液制御手段(7, 7')を開にして、白血球除去フィルター(4)に血

液を満たす。白血球除去フィルター（４）に血液が満たされたら、通液制御手段（７，７'）を閉にして、タイマーを設定する。予めタイマーに設定しておいた時間が経過すると、タイマーからの信号に基づき、作動手段（１０）により通液制御手段（７，７'）が解除されて、血液は自動的に通液を開始し、白血球除去フィルター（４）を通過して白血球が除去された血液が血液回収部（３）に回収される。

フィルターを血液で満たして後の通液を制御しておく時間は５分以上３００分未満が好ましく、１０分以上１８０分未満、さらには３０分以上１２０分未満であることが望ましい。５分未満の通液制御時間であるとフィルターを血液で満たした効果が得られず、血小板回収率の向上が見られない可能性があるため好ましくない。３００分以上であると、大量の血液を濾過することが困難になるため好ましくない。

#### <実施例２２>

図２に示すような血液濾過装置で、光学センサーを信号発生手段（９）とした「第一の濾過法」を行う場合、血液貯留部（２）に血液を充填し、通液制御手段（７，７'）を閉にしておいて、血液貯留部（２）をフックに架ける。予め設定しておいた血球の分離度をセンサーが検出したとき、センサーからの信号に基づき、作動手段（１０）により自動的に通液制御手段（７，７'）が解除されて、血液は通液を開始し、白血球除去フィルター（４）を通過して白血球が除去された血液が血液回収部（３）に回収される。血球分離度の値は３％以上６０％未満、さらに１０％以上４５％未満であることが好ましい。血球分離度が５％未満では血球濃度勾配形成が不十分でフィルター性能の向上が見られず、６０％以上であると、貯留部下部の血液のヘマトクリット値が高くなりすぎ、濾過時間の延長や圧力損失の増加による溶血、あるいは通液性の低下を誘発する恐れがあるためである。

#### 〔産業上の利用の可能性〕

本発明の血液濾過方法によると、全血製剤から白血球を効率良く除去することができる。さらに、全血製剤や血小板製剤から白血球を効率良く除去しつつ、且つ、高い血小板回収率を安定して得ることができる。即ち、本発明の血液濾過方

法は、輸血副作用の原因となる白血球を高度に除去すること、あるいは有用成分としての血小板を高率で回収できることにより、輸血医療において有効な方法として用いることができる。

また、本発明の血液濾過装置は、本発明の血液濾過方法を行う際の特に好適な装置である。本発明の濾過装置は、通液制御手段が自動的に解除され濾過が開始されるので、濾過実施者の負担を軽減できる上に、フィルター性能を高く、かつ安定化させることができる。

## 請 求 の 範 囲

1. 血液から白血球を除去するための血液濾過方法であって、血液を貯留する貯留部において血球濃度勾配を形成した後、血液を白血球除去フィルターで濾過し、濾過した血液を回収部で回収することを特徴とする血液濾過方法。
2. フィルターに血液を充填する前に、予め貯留部において血液の血球濃度勾配を形成させる、請求項1記載の血液濾過方法。
3. 所定時間の静置によって血球濃度勾配を形成させる、請求項1又は2記載の血液濾過方法。
4. 5分以上300分未満の静置によって血球濃度勾配を形成させる、請求項3記載の血液濾過方法。
5. 軽遠心によって血球濃度勾配を形成させる、請求項1又は2記載の血液濾過方法。
6.  $100 \times g$ 以上 $1200 \times g$ 以下の遠心力で、0.3分以上10分以下の軽遠心を行うことによって血球濃度勾配を形成させる、請求項5記載の血液濾過方法。
7. 軽遠心によって血球濃度勾配を形成させた後、所定時間静置する請求項5又は6記載の血液濾過方法。
8. フィルターに血液を充填後、貯留部において血液の血球濃度勾配を形成させる、請求項1記載の血液濾過方法。
9. 所定時間の通液制御によって血球濃度勾配を形成させる、請求項1又は8記載の血液濾過方法。
10. 5分以上300分未満の通液制御によって血球濃度勾配を形成させる、請求項9記載の血液濾過方法。
11. 血液が新鮮な全血製剤である請求項1～10のいずれかに記載の血液濾過方法。
12. 貯留部下部の血液のヘマトクリット値が、貯留部の全血製剤を均質に混和した場合のヘマトクリット値より高くなるように赤血球濃度勾配を形成した後、血液を貯留部下部から白血球除去フィルターへ導入する、請求項1～11のいずれ

れかに記載の血液濾過方法。

13. 貯留部下部の血液のヘマトクリット値が、貯留部の全血製剤を均質に混和した場合のヘマトクリット値の1.05倍以上2.50倍未満である、請求項12記載の血液濾過方法。

14. 貯留部下部の血液のヘマトクリット値が35%以上75%未満である、請求項12又は13記載の血液濾過方法。

15. 血球濃度勾配を形成した貯留部の血液の血球分離度が3%以上60%未満である、請求項11～14のいずれかに記載の血液濾過方法。

16. 血液が血小板製剤である、請求項8記載の血液濾過方法。

17. 血液から白血球を選択的に除去し、血小板を通過させる、請求項1～16のいずれかに記載の血液濾過方法。

18. 一つの白血球除去フィルターで濾過する請求項1～17のいずれかに記載の血液濾過方法。

19. 少なくとも、血液を貯留する貯留部と、該貯留部を保持する保持部と、白血球除去フィルターと、該フィルターで濾過した血液を回収する回収部と、貯留部と白血球除去フィルターとを接続する第1連結管と、白血球除去フィルターと回収部とを接続する第2連結管とを含む血液濾過装置において、第1連結管及び／または第2連結管に設けられた血液の通液を制御する通液制御手段と、該通液制御手段に連動した信号発生手段と、該信号発生手段からの信号に基づき、前記通液制御手段を自動解除させる作動手段を有することを特徴とする血液濾過装置。

20. 血液の貯留部を、保持部によって所定時間静置した後に、信号発生手段から信号が発せられる、請求項19記載の血液濾過装置。

21. 血液の貯留部を、保持部によって5分以上300分未満静置した後に、信号発生手段から信号が発せられる、請求項20記載の血液濾過装置。

22. 軽遠心した後の血液が入った貯留部を、保持部によって所定時間静置した後に、信号発生手段から信号が発せられる、請求項19記載の血液濾過装置。

23.  $100 \times g$ 以上 $1200 \times g$ 以下の遠心力で、0.3分以上10分以下の軽遠心を行った後の血液が入った貯留部を、保持部によって所定時間静置した後に、信号発生手段から信号が発せられる、請求項22記載の血液濾過装置。

24. 血液を、フィルターに充填して所定時間通液を制御した後、信号発生手段から信号が発せられる、請求項19記載の血液濾過装置。

25. 血液を、フィルターに充填して5分以上300分未満通液を制御した後、信号発生手段から信号が発せられる、請求項24記載の血液濾過装置。

26. 3%以上60%未満の血液分離度に達した後、信号発生手段から信号が発せられる、請求項19～25のいずれか記載の血液濾過装置。

27. 信号発生手段がタイマーである、請求項19～25のいずれか記載の血液濾過装置。

28. 信号発生手段が光学センサーである、請求項19又は26記載の血液濾過装置。

図 1

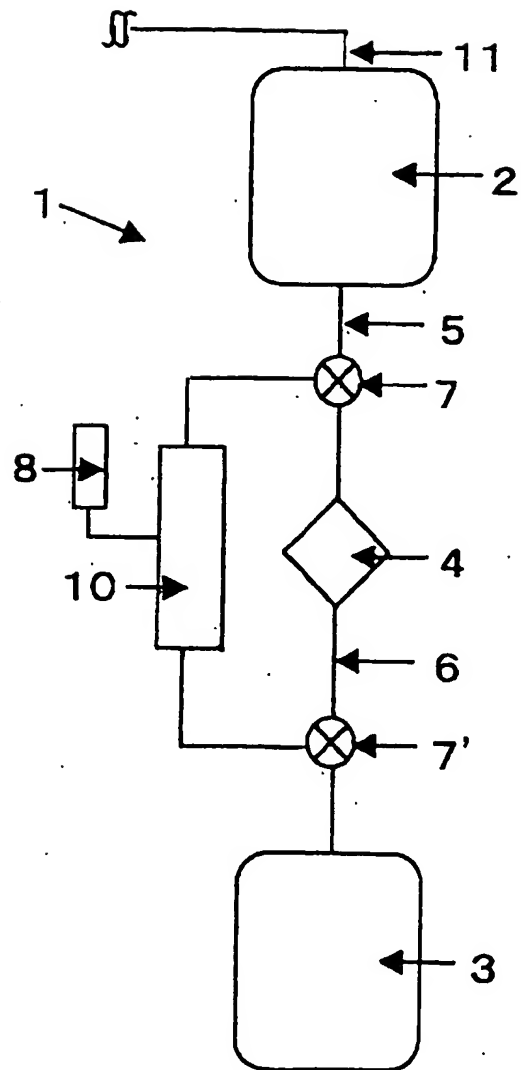


図 2

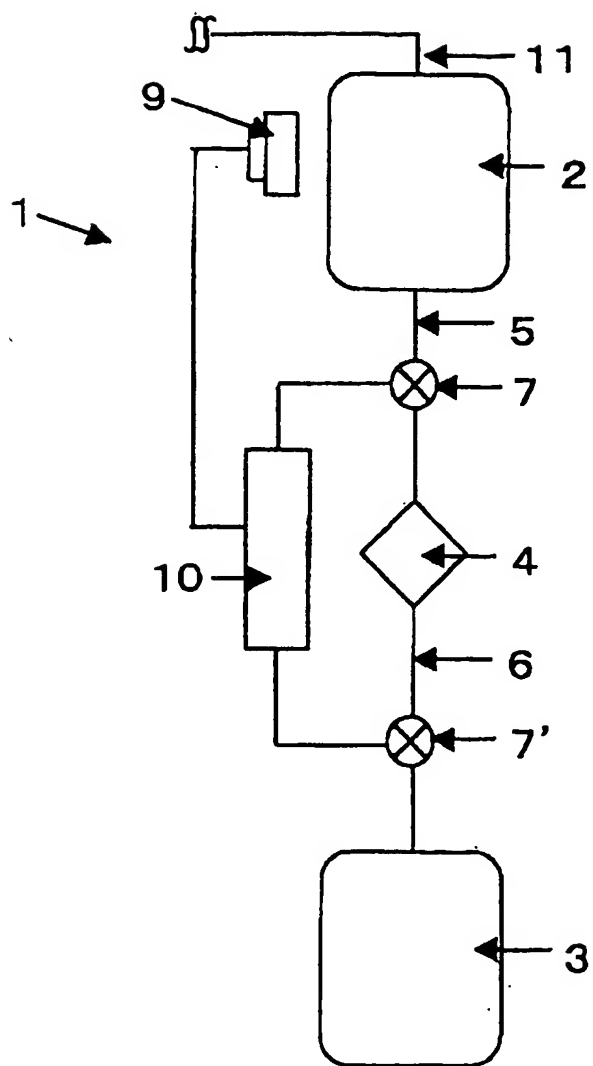


図 3

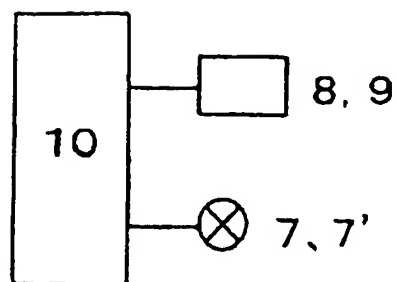


図 4

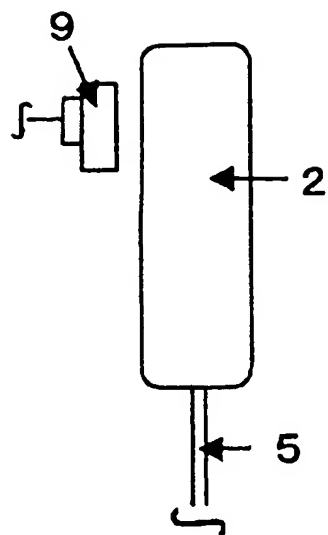


図 5

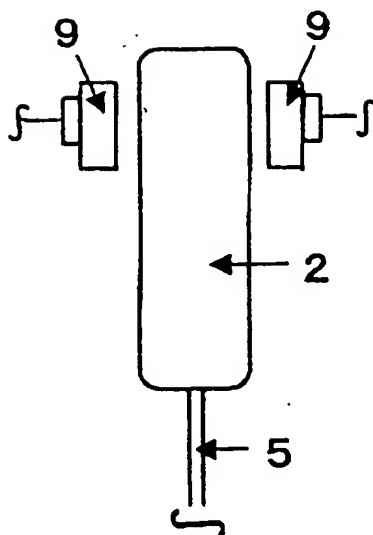
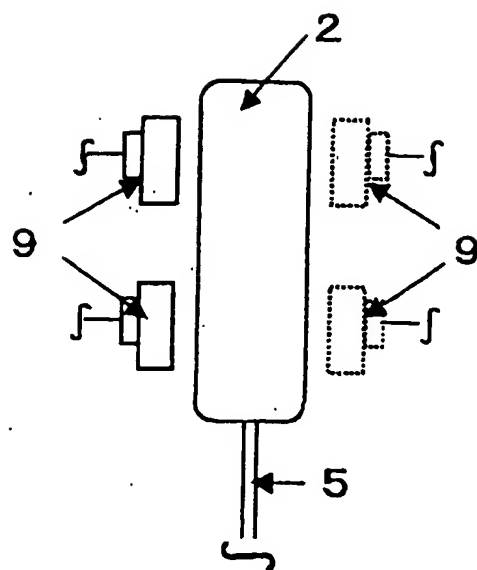


図 6



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP02/04201

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl<sup>7</sup> A61M1/02

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl<sup>7</sup> A61M1/02

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2002

Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2002 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2002

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2000-334034 A (Terumo Corp.), 05 December, 2000 (05.12.00), Full text; Figs. 1 to 3 (Family: none)	1-28
A	JP 05-322886 A (Kitosu Inc.), 07 December, 1993 (07.12.93), Full text; Figs. 1 to 2 & EP 190488 B1	1-28

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.
 ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"I" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier document but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search  
22 July, 2002 (22.07.02)Date of mailing of the international search report  
06 August, 2002 (06.08.02)Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl<sup>7</sup> A61M 1/02

## B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl<sup>7</sup> A61M 1/02

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報 1922-1996年  
 日本国公開実用新案公報 1971-2002年  
 日本国登録実用新案公報 1994-2002年  
 日本国実用新案登録公報 1996-2002年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	JP 2000-334034 A (テルモ株式会社) 2000. 12. 05 全文、第1-3図 (ファミリー無し)	1-28
A	JP 05-322886 A (キトス インコーポレーテッド) 1993. 12. 07 全文、第1-2図 & EP 190488 B1	1-28

☐ C欄の続きにも文献が列举されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの  
 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの  
 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)  
 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献  
 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの  
 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの  
 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの  
 「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

22. 07. 02

国際調査報告の発送日

06.08.02

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)  
 郵便番号 100-8915  
 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

生越 由美

3E 8208

電話番号 03-3581-1101 内線 3346